

DIE EXPERIMENTELLE HAUTLEISHMANIASE
DER HAARLOSEN MAUS

Karola Scheffer

1980

Dissertations- und Fotodruck ANNELIESE SCHUBERT
Corneliusstraße 21 · 8000 München 5 · Telefon 26 81 77

AUS DER ABTEILUNG FÜR INFektions- UND TROPENMEDIZIN
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
LEITER: PROF. DR.MED.. W.LANG

DIE EXPERIMENTELLE HAUTLEISHMANIASE DER HAARLOSEN MAUS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Karola Scheffer
aus Nürnberg

München 1980

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Prof.Dr.W.Lang
Mitberichterstatter:	Prof.Dr.E.Buchborn
Dekan:	Prof.Dr.W.Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	31.7.1980



Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung	1
B. Eigene Beobachtungen und Untersuchungen	5
1. Material und Methoden	5
a. Methoden der Stammgewinnung	5
b. Versuchstiere	6
c. Arbeitsmethoden	7
2. Befunde	8
a. Bedeutung der Körperstelle	8
b. Wirkung der Umgebungstemperatur	12
c. Hautläsionen und Parasitenvermehrung	15
d. Rolle der bakteriellen Begleitkomponente	17
e. Hautproben und Hautläsionen	19
f. Spontane Viszeralisierung von <i>L.tropica</i>	21
g. Reinfektionsmöglichkeiten	23
C. Diskussion	24
D. Zusammenfassung	39
E. Literaturverzeichnis	40
F. Lebenslauf	47



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548319_0055

A. Einleitung

Versuche, Orientbeulen auf der Haut von Menschen und Tieren künstlich zu erzeugen, gehen bis weit in die vorätiologische Aera zurück. Bevor der Erreger *Leishmania tropica*, 1903 durch Wright (56) endgültig bekannt gemacht wurde, hoffte man durch artifizielle Übertragungen von Gewebssaft und Zellmaterial aus Hautulzera den Beweis ihrer "Kontagiosität" erbringen zu können. Die Übertragbarkeit und Ansteckungsfähigkeit war in der Tat lange Zeit umstritten. "Alle älteren Tierimpfungen mit angeblich positivem Befunde, bei denen sich eine entfernte Ähnlichkeit mit der Orientbeule des Menschen ergab, der Erregernachweis aber noch nicht durchgeführt wurde, sind mit Vorsicht aufzunehmen". (Finger) (15).

Die ersten versuchsweisen Übertragungen des nachgewiesenen Erregers auf Tiere und künstlichen Erzeugungen von Orientbeulen gehen auf Nicolle & Sicre (1908) (39) zurück. Sie experimentierten mit intrakutanen Verabfolgungen von Kulturmateriel der *L. tropica* an Affen. Seitdem begann man sich in der *Leishmania*-forschung vermehrt für die Bedeutung von Versuchstieren zu interessieren. So berichtet Gonder (1913) (17) erstmals über Erfahrungen mit der experimentellen kutanen Übertragung der Erreger auf Laboratorimäuse. Diese Möglichkeit wurde in der Folgezeit durch zahlreiche weitere Versuche ähnlicher Art von anderen Autoren bestätigt und zur Methode ausgebaut. (Mayer et al.) (34). *L. tropica* ist in begeisselter und unbegeisselter Form über Hautskarifikationen und intrakutan auf Mäuse übertragbar und in diesen zu mehr oder minder stürmischer Vermehrung zu bringen. Es mußte in der damaligen Zeit, als *Leishmaniasen* noch nicht allgemein als Anthropeozoonosen erkannt waren, als Überraschung empfunden worden sein, daß dem Menschen physiologisch so fern stehende Lebewesen, wie Labormäuse sich als gute Experimentalwirte für seine protozoären Zellparasiten erwiesen. Das Auffinden einer natürlich infizierten Hausmaus im endemischen Gebiet ließ

mehr als 6 Jahrzehnte auf sich warten (Dubovsky 1975) (11). Es kommt ihm keine nennenswerte epidemiologische Bedeutung zu. Da Nicolle (38) schon 1908 den Beweis erbrachte, daß Leishmanien auf leblosen Nährböden vermehrbar sind, konnte die wichtigste Anforderung Robert Koch's an einen Krankheitserreger für den der Hautleishmaniose durch Infektion von Mäusen mit Kulturformen im bakteriologischen Sinne perfekt erbracht werden. Zu seinem Überblick über die Möglichkeiten, kleine Versuchstiere mit Leishmanien zu infizieren, bezeichnete Stauber (1973) (51) das künstliche Wirt-parasitsystem *L.tropica*-Labormaus als ein brauchbares Studienobjekt und "apparently the most easy followed combination".

Entsprechend dieser Devise wird die Methode heute allgemein, sowohl mit promastigoten, wie amastigoten Entwicklungsformen von Leishmanien benützt und zwar in der experimentellen Chemotherapie (Pershin & Moskalenko 1962 (42), Ercoli 1964 (13), Neal 1964 (36), Beveridge & Neal 1967 (3), Steck 1974 (52), Trotter et al 1979 (53), der Immunitätsforschung Behbehani 1973 (2), Preston et al. 1971, 1976, 1978, (44,45,46) Agaeva et al. 1977 (1), Handman et al. 1979 (19), bei epidemiologischen Untersuchungen (Kellina 1962, 1966) (25,26), Dobrzhanskaya et al 1976 (9), Karimov et al. 1976 (24) und vor allem im Rahmen biologischer Studien (Hayatee 1970 (20), Dobrzhanskaya 1977 (10), Krampitz et al. 1977 (32), Bjorvatn & Neva 1979 (4), Weintraub et al. 1976 (55), Packchanian 1979 (40).

Trotzdem ist die Gesamtbilanz dieser Erfahrungen für die Praxis nicht befriedigend (Krampitz et al. 1977 (32). Die Routinediagnostik hat wegen der Unsicherheit und Schwerfälligkeit der Prozeduren wenig Interesse am Tierversuch, für die Stammhaltung wird die quantitativ besser kontrollierbare in vitro-Vermehrung bevorzugt, die experimentelle Chemotherapie wünscht sich eine bessere Standardisierbarkeit und manche biologisch wichtige Frage, deren Beantwortung man sich anfangs durch das Tierexperiment erhoffen durfte, ist hartnäckig offen geblieben, ja es ergaben sich durch das Tierexperiment sogar neue Unklarheiten und Wider-

sprüche. Sie betreffen einmal Fragen der topischen Spezifität und ihrer Modifikationsfähigkeit beim Experimentieren, vor allem beim Übergang von einer Wirtsspezies auf eine andere. Zum anderen blieb es unklar, ob der Hautmanifestation eine stumme Generalisation der Erreger im Körper vorausgeht, oder ob auch das Gegenteil vorkommt, eine initiale Vermehrung der Leishmanien am Orte des Eintrittes in die Haut mit Schankerbildung und nachfolgender viszeraler Orientierung. Die Fragen der Artunterscheidung erfahren durch den Tierversuch nicht die erhoffte Förderung. Es ist bekannt, daß die Empfänglichkeit einer Wirtsart oder eines Labortierstammes genetisch festgelegt ist. Es gibt große Unterschiede in der Empfänglichkeit, Schnelligkeit der Spontanheilung und Resistenz gegenüber der Reinfektion. Ob und wie gut ein Wirt mit einer experimentalen Leishmaniose fertig wird, ist eine Frage der Effizienz seiner zellgebundenen Immunitätsmechanismen (Bryceson 1975) (5), Handman et al. 1979 (19); zirkulierende Antikörper sollen diesen gegenüber nur eine untergeordnete Rolle spielen. Daß diese jedoch auch gebildet werden und wirksam sind, zeigten Agaeva et al. 1977 (1).

Im Folgenden soll versucht werden, ob durch Verwendung eines vielversprechenden, haarlosen Zuchtstammes der Labormaus die alten Erfahrungen mit dem Experimentalwirt Hausmaus zu bestätigen und zu bereichern sind. Die Haarlosigkeit der Tiere verspricht dabei günstige Überprüfungsmöglichkeiten der Infektionsergebnisse mit einem Protozoon, das primäre topische Spezifität für das Hautorgan zeigt. Die Thymusinsuffizienz von Nacktmäusen eröffnet darüber hinaus von der Seite der Empfänglichkeit und erschwerten Immunantwort her gesehen, die Aussicht auf ein besonders günstiges Tiermodell. Die bisher publizierten Erfahrungen weisen in diese Richtung. Insbesondere soll jetzt festgestellt werden, ob und in welcher Weise die Pathogenese und der Verlauf der künstlichen Orientbeule auf der Nacktmaus von der Körperstelle, der Umgebungstemperatur oder der bakteriellen Begleitflora abhängt. Offen ist auch die Frage der Reinfektionsmöglichkeit im Immunschwächling und die Bedingungen unter denen eine "Viszeralisierung"

von *L.tropica* über das Hautorgan hinaus in der Maus vorkommt. Nachdem Packchanian (1979) (40), wie bereits vorher auch wir (Krampitz, Weber & Scheffer 1977) (32) die Frage zu bejahen geneigt waren, ob man das künstliche Wirt-Parasitmodell Nacktmaus - *L.tropica* für die in vivo Isolierung und Passagehaltung des Parasiten empfehlen könne, soll abschließend auch aus der Sicht dieser Untersuchungen dazu Stellung bezogen werden.

B. Eigene Beobachtungen und Untersuchungen

1. Material und Methoden

a. Methoden der Stammgewinnung:

Der Stamm *Leishmania tropica*, mit dem gearbeitet werden sollte, wurde am 10. September 1976 in der Ambulanz der Abteilung für Infektions- und Tropenmedizin der Universität München gewonnen. Ein Ehepaar erschien mit manifesten Orientbeulen. Der Mann war seit Mai 1975 beim Arbeitseinsatz in Saudiarabien und seine Frau hatte ihn dort kurzfristig besucht. Die 40-jährige Frau zeigte in der Gegend des rechten Knies ein Ulkus von der Größe eines Fünfmärkstückes mit etwas gewulsteter, blauroter Randzone, in der sich mikroskopisch massenhaft Leishmanien nachweisen ließen.

Der 47-jährige Mann bot multiple bis maximal linsengroße, papulöse Effloreszenzen an den Händen und dem rechten Großzehen-Grundgelenk. Ulzeriert war zum Zeitpunkt der Inspektion nur der Herd am Fuß. Die anderen Herde imponierten als leicht blaurot verfärbte Papeln. Der Patient gab an, solche "Beulen" an verschiedenen Körperstellen schon bald nach seiner Arbeitsaufnahme in Arabien beobachtet zu haben. Aus dem Rand des Ulkus an der Zehe konnten ebenfalls reichlich Leishmanien gewonnen werden. Nach Ansicht von Experten zählt die Hautleishmaniose in Saudiarabien zu den häufigsten und wichtigsten Krankheiten überhaupt (Morsy 1977) (35). Für landfremde Besucher gibt es dort fast kein Entrinnen vor dieser Infektion.

Die Parasitendichte in den Ulkuspunktaten reichte bei den Patienten aus, um eine Lebendhaltung der Stämme im Versuchstier aussichtsreich erscheinen zu lassen. Im Laufe der Isolationsprozedur mußte die topische Spezifität der Stämme für das Versuchstier bestimmt werden, weil von dieser abhängt, wie der Stamm in vivo zu halten ist. Die Leishmanien aus beiden Patienten wurden in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und dann sowohl intraperitoneal, wie subkutan auf Goldhamstern, Röteldmaus und weiße Labormaus verimpft.

Acht Wochen später erbrachte die Untersuchung der Tiere das folgende Ergebnis: In Milz, Leber und Knochenmark von Goldhamstern und Rötelmäusen hatte keine Ansiedlung und Vermehrung der Parasiten stattgefunden, wohl aber in allen Hautlokalisationen, besonders der Hamsterunterlippe und an der Schwanzwurzel der Albinomaus. Bei der Maus hatte sich ein etwa erbsgroßer Abszess gebildet, in dessen entzündlichen Randpartien, ebenso wie in der Hamsterlippe, massenhaft Leishmanien nachgewiesen werden konnten. Die Virulenz und Vermehrungsfreudigkeit der Stammlinie aus der Frau erwies sich als deutlich größer, weshalb wir mit dieser Linie in die Sekundärpassage gingen. Wieder wurden die Parasiten in Kochsalzlösung suspendiert und subkutan auf verschiedene Empfängertiere verimpft.

Die Übertragung gelang in jedem Falle. Seitdem konnte der *Leishmania tropica*-Stamm "Vetter ♀" an kleine Labortiere voll adaptiert in fortlaufenden in vivo-Passagen am Leben gehalten werden, ohne bisher etwas von seinen typischen pathogenen Eigenschaften eingebüßt oder seine tropische Präferenz verändert zu haben.

b. Versuchstiere:

Als Experimentalwirte wurden Mäuse eines besonderen, haarlosen Zuchtstammes verwendet. Homozygote Nacktmäuse (nu/nu) haben kongenital keine funktionstüchtige Thymusdrüse und sind überaus empfindlich gegenüber Umweltnoxen aller Art, vor allem Temperaturschwankungen und Infektionen. Auch stellt aus diesen und wohl noch einigen anderen Gründen die konventionelle Vermehrung stets ein Problem dar. Es wurden daher Mäuse, des allerdings von Pérez et al (1979) (41) als gegenüber Leishmanien als wenig empfindlich bezeichneten, aber sehr robusten Zuchtstammes N:M.R.I. systematisch eingekreuzt und unter dem Nachwuchs die nackten Phänotypen selektioniert. Nach wenigen Generationen züchteten diese wieder rein; das nu-Merkmal erwies sich hier als biologisch dominant. Auf diese Weise konnte ein hinlänglich widerstandsfähiger, hochproduktiver heterozygoter Zuchtstamm (nu/NMRI) entwickelt werden, der sich für unsere Zwecke gut eignete. Die ab-

solute Thymuslosigkeit ging dabei wahrscheinlich verloren, jedoch mag eine gewisse Schwäche der zellgebundenen Immunabwehr als durchaus wünschenswert geblieben sein.

Weitere Experimentalwirte entnahmen wir nach Bedarf aus den Versuchtstierzuchten des Institutes. Die Unterbringung der Tiere erfolgte einzeln in Makrolonkäfigen mit Sägemehleinstreu und Zellstoff als Nistmaterial. Gefüttert wurde mit Fertigfutter der Handelsbezeichnung "Ssniff". Zum Trinken stand Leitungswasser ohne Zusätze ad libitum zur Verfügung.

c. Arbeitsmethoden:

Leishmanienhaltiges Gewebe, entnommen aus Hautulcera, Lymphknoten, Milz, Leber oder Knochenmark der Versuchstiere wurde in physiologischer NaCl-Lösung suspendiert. Solche Aufschwemmungen von Zellen und Gewebsdetritus wurden in einheitlichen Dosen von 0,5 ml an verschiedene Stellen der Empfängertiere verimpft. Es bestehen beim Experimentieren mit intrazellulären Parasiten ohne Zwischenschaltung der in vitro-Züchtung stets Schwierigkeiten, das infektiöse Inokulum quantitativ genau zu bemessen, was die darin enthaltene Parasitenzahl anlangt. Auch in unserem Falle konnte diese Mengenbestimmung nur semiquantitativ über die Gleichbemessung von Infektionsvolumina erfolgen. Vergleichbarkeit der Ergebnisse bestand also jeweils nur innerhalb einer Versuchsreihe. Nach der Obduktion der mit Äther getöteten Tiere fertigten wir von allen verdächtigen Körperstellen und parenchymatösen Organen Tupfpräparate an, die für die mikroskopische Prüfung nach Giemsa gefärbt wurden. In gleicher Weise wurde mit Eiterausstrichen verfahren.

Um den Einfluß verschiedener Umgebungstemperaturen auf die Entwicklung von experimentellen Leishmania-Infektionen der Haut von Nacktmäusen, zu prüfen, wählten wir für diese 3 Unterbringungsorte. Einmal den Tierstall des Instituts mit einer durchschnittlichen Raumtemperatur von ca. 18°C, zum anderen einen klimatisierten Raum mit konstanter Temperatur von 28°C und schließlich den kalten Dachspeicher des Institutes mit Temperaturen von weniger als 10°C während der Durchführung der Unter-

suchungen. Die Temperaturstufen lagen somit um ca 10°C auseinander. Die maximale Laufzeit aller unserer Tierversuche wurde einheitlich auf ein Vierteljahr begrenzt. Der Gültigkeitsbereich aller Aussagen aus diesen bezieht sich ausschließlich auf diesen postinfektionellen Beobachtungszeitraum.

2. Befunde

a. Bedeutung der Körperstelle

Die erste Frage, die das Experiment beantworten sollte, betraf die Körperstelle, die bei der Nacktmaus für eine experimentelle Hautleishmaniose besonders geeignet oder ungeeignet ist. Von den meisten Voruntersuchern war bisher die dorsale Schwanzwurzelgegend der weißen Maus als Inokulationsort bevorzugt worden. Diese Region ist bei konventiellen, felltragenden Labormäusen relativ dünn behaart, so daß die Entwicklung von Hautveränderungen dort relativ gut beobachtet werden kann (Abb.1,2). Das besagt jedoch nicht, daß diese Körperstelle auch für die Entwicklung der Leishmanien unbedingt die günstigste sein muß. Für diese Entwicklung dürften die lokale Hauttemperatur und die Durchblutungsverhältnisse eine Rolle spielen. Es galt also verschiedene Hautstellen zu prüfen. Gewählt wurden neben der Schwanzwurzel, der Kopf, der Rücken, die Oberschenkelgegend und die Bauchregion. Die erste Versuchsserie enthielt 3 x 15 Tiere. In ihr sollte, angeregt durch eine beachtliche einschlägige Literatur auch gleich noch eine zweite Frage mitüberprüft werden: ob und in welchem Maße kann die Umgebungstemperatur die Entwicklungsgeschwindigkeit hautbewohnender Leishmanien und die Zeit der Ausbildung von Ulzera beeinflussen? Dazu wurden je 3 gleichartig infizierte Tiere während des Infektionsverlaufes in 3 verschieden temperierten Räumen gehalten. Entwicklungsgeschwindigkeit und maximale Größe der sich entwickelnden Läsionen zeigten an verschiedenen Körperstellen bei derselben Umgebungstemperatur keine signifikanten Unterschiede. Die örtliche Infektion wird binnen einer Woche mit der Bildung



Abb. 1

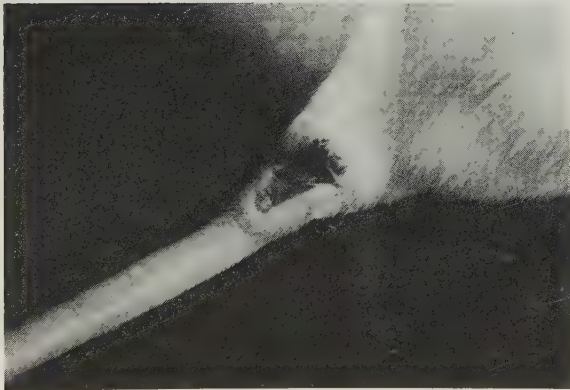


Abb. 2

Abb. 1 und 2: Experimentelle Hautleishmaniase der Labormaus.
Infektionsergebnis mit der konventionellen Methode
der intrakutanen Verimpfung der Parasiten in die
Gegend der Schwanzwurzel.

eines schließlich bis erbsgroßen, subepithelialen, gelben Knötchens beantwortet (Abb.4). Es schmilzt eitrig ein, entleert sich nach außen und nimmt 2 - 3 Wochen post infectionem die Gestalt eines chronischen Ulkus an (Abb.1,6). Dieses Geschwür kann bis tief ins subkutane Gewebe reichen und die darunter liegende Muskulatur mit einbeziehen. Trotzdem scheint der Allgemeinzustand, die Nahrungsaufnahme und Bewegungsfreudigkeit der Tiere zunächst wenig beeinflusst, solange die Ulzera sich nicht exzessiv am Kopf oder in der Bauchregion entwickeln. In der näheren Umgebung der Primärläsion entstehen in der Haut lymphogen oft kleinere Satelliteneffloreszenzen (Abb.5). Alle Geschwürsbildungen sind durch einen eigentümlich wulstigen, entzündlichen Rand und einen schorfigen, später auch mit braungrauer Kruste bedeckten Grund gekennzeichnet. In der groben makroskopischen Morphologie dieser Kraterbildungen kann erstaunliche Übereinstimmung mit dem Aussehen von spontanen Orientbeulen auf der Menschenhaut bestehen. Die Leishmanien-Vermehrung erfolgt hier wie da vor allem in den wulstigen Geschwürsrändern an der Grenze zum noch gesunden Gewebe. Sie erreicht ihren Höhepunkt, wenn das Ulkus seine charakteristische Gestalt erreicht hat und klingt dann allmählich ab.

Die Spontanheilungs- und Vernarbungstendenz war an allen Körperstellen etwa gleich. Die Abheilung der Geschwüre war in der Regel binnen 8 Wochen post infectionem abgeschlossen (Abb.9). Bei einzelnen Tieren persistierten die Ulzera allerdings noch erheblich länger und zwar unabhängig vom Ort der Infektion. Die Tendenz zur Ausbildung von Verhornungsanomalien (Abb.10) im Narbenbereich bis zur Bildung eines cornu cutaneum (Abb.11) ist ausgeprägt. Gelegentlich wurde auch exzessives Nagelwachstum an den Zehen beobachtet (Abb.3). Auch wenn der ehemalige Geschwürsbereich weitgehend narbig abgeheilt ist, können sich in der Tiefe noch kleinere aktive Parasitennester nachweisen lassen. Sie sterben aber dann doch allmählich aus. Spätrezidive oder diffuse Ausbreitung über das ganze Hautorgan wurden nicht beobachtet.



Abb. 3: Gesamtansicht einer an 2 Stellen gleichzeitig subkutan
mit *Leishmania tropica*-Amastigoten infizierten Nacktmaus
3 Wochen post infectionem

Zusammenfassend läßt sich aus den Ergebnissen mit unserer relativ kleinen Versuchsserie hinlänglich sicher sagen, daß es keine günstigen und weniger günstigen Hautregionen für die Entwicklung einer experimentellen Hautleishmaniose an der Nacktmaus gibt. Es lassen sich auch gleichzeitig an mehreren Körperstellen Ulzerationen erzeugen. Aus praktischen Gründen empfiehlt es sich aber, bei der seit jeher bevorzugten Region, der dorsalen Schwanzwurzelgegend zu bleiben. Hier läßt sich die Infektion und ihr Verlauf am einfachsten und gefahrlosesten für das Tier vollziehen und überwachen.

b. Wirkung der Umgebungstemperatur:

In charakteristischer Weise anders stellen sich die Verhältnisse unter dem Aspekt der verschiedenen Umgebungstemperaturen dar. Die konstant kühlere Umgebung von weniger als 10°C hemmte die Entwicklung der Leishmanien und der durch sie hervorgerufenen Hauterscheinungen deutlich. Es entwickelten sich nur verhältnismäßig kleine, oft kaum ins Auge fallende Knötchen, die sehr viel später ulzerierten. Die narbige Abheilung war ebenfalls deutlich verzögert. Bei Beendigung des Versuches nach 3 Monaten war sie nur bei 5 von 15 Tieren dieser Teilserie erfolgt. Dementsprechend war die Leishmanienvermehrung in der Mäusehaut, wie wir in Stichproben prüften, bei mitteleuropäischen Wintertemperaturen sichtbar gebremst (Tabelle 1).

Im Gegensatz hierzu entstanden im Warmraum, bei einer Umgebungstemperatur, wie sie etwa auch für die in vitro-Züchtung von Leishmanien günstig ist, schon nach wenigen Tagen Abszesse, die sich rasch in bis zu pfennigstückgroße Ulzera verwandelten, dann aber bemerkenswert rasch völlig vernarbt. Die Leishmanienvermehrung in der Haut war stürmisch und erreichte ein sichtbar größeres Ausmaß, als unter kühlen Umgebungstemperaturen. Bei Beendigung des Versuches nach 3 Monaten waren bei allen 15 Tieren der Teilserie die Ulzera vernarbt. Das Geschehen läuft bei gleichen Infektionsdosen und -Orten im Warmraum sowohl hinsichtlich der lokalen Parasitenvermehrung, wie der pathologischen Erscheinungen etwa doppelt so schnell ab, wie in kühler Umgebung.

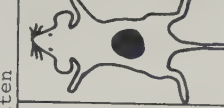
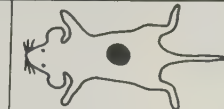
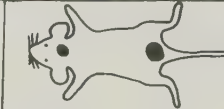
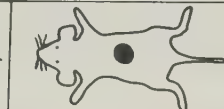
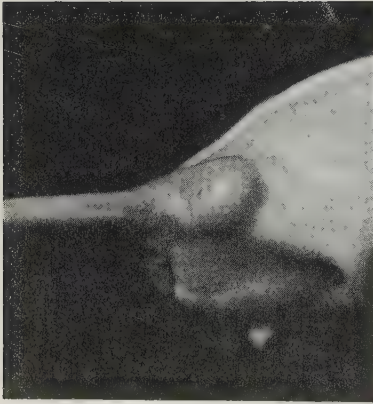
nach 1 Monat	nach 2 Monaten	nach 3 Monaten
		
		
		
		
		
		

Tabelle 1: Die Entwicklung der Orientbeule auf der haarlosen Maus in Abhängigkeit von der Umgebungstemperatur.
Die 3 Serien geben von oben nach unten die Verhältnisse bei 10°C, 18°C und 28°C wider.



, Abb.4

Abb.5

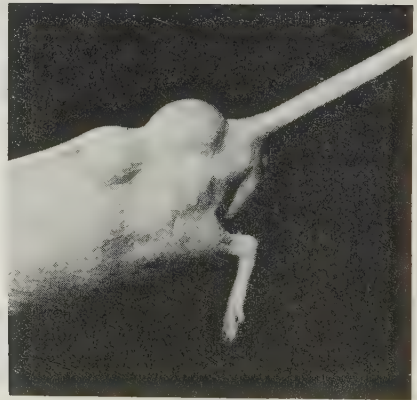


Abb.6



Abb. 4-6: Knötchen- und Ulcusbildung an der Haut der Nacktmaus nach intrakutaner Infektion mit *Leishmania tropica*. In Abb.5 ein lymphogener Satellitenherd.

Im 18°C-Tierstallmilieu waren die Verläufe mehr denen im Warmraum angenähert und die feststellbaren quantitativen und qualitativen Unterschiede zu diesem unerheblich und undeutlich.

c. Hautläsionen und Parasitenvermehrung:

Makroskopisch treten nach Infektion mit einer Haut-Leishmanien-Aufschwemmung bei der Nacktmaus am Inokulationsort die ersten sichtbaren Erscheinungen in Form gelblicher Knötchen und Knoten schon am Ende der ersten Woche post infectionem auf. Eine Frühreaktion dieser Art kann nicht zwangsläufig als eine solche auf die Leishmanienvermehrung gedeutet werden. Sie wird wahrscheinlich durch Begleitkomponenten im Inokulum, vor allem bakterieller Art begünstigt. Es war in diesem Zusammenhang interessant zu prüfen, wann erstmals in den Läsionen Leishmanien in einer direkt mikroskopisch nachweisbaren Menge zu finden sind, so daß auf erfolgreiche Vermehrung in loco geschlossen werden kann.

Wir impften simultan gleiche Mengen einer stark leishmanienhaltigen Hautzellsuspension intrakutan in die Schwanzwurzel von 20 Nacktmäusen. Jede Woche wurde bei 2 Tieren dieser Serie die infizierte Hautstelle im Giemsa-gefärbten Tupfpräparat auf Leishmanien untersucht. Der Versuch lief bei Raumtemperatur. Die Sequenz der Hauterscheinungen entsprach im Wesentlichen der, die im ersten Versuch beschrieben ist. Der positive Leishmaniennachweis gelang mit unserer Grobmethode nicht vor dem 14. Tage post infectionem. Die für die Infektion typischen kraterförmigen Läsionen waren also bereits weitgehend vorgezeichnet, bevor man die Chance hatte, mit unserer Methode die ersten Leishmanienansammlungen zu entdecken. Der Parasit profitiert offenbar von einem pathogenetischen Prinzip, an dem er zumindest als *primum movens* zunächst keinen oder nur geringen Anteil hat. Es mag dieses ein Mechanismus sein, der die Abwehr anderweitig in Anspruch nimmt und (oder) von der zellulären Seite her örtlich ein günstiges Ansiedlungsmilieu für die Leishmanien als Zellparasiten schafft. Hierbei wäre ganz allgemein

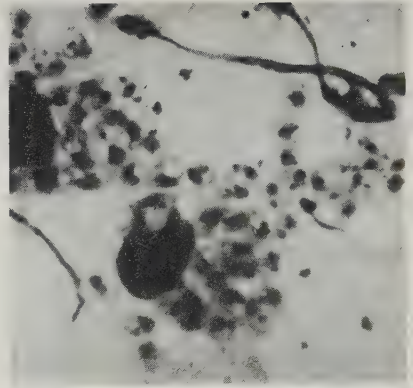
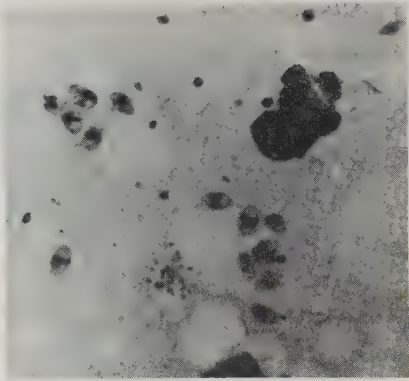


Abb.7 und 8: *L.tropica* im Hauttupfpräparat des Ulkusrandes
(Giemsafärbung)



Abb.9: Normales
Vernarbungsstadium



Abb.10: Atypische
Abheilung des Ulkus
mit kokardenförmiger
Hyperkeratose



Abb.11: Bildung eines cornu cutaneum über
dem einstigen Leishmanienulcus

und unspezifisch an eine wie auch immer geartete Hautschädigung oder Laesio continui der Haut im weitesten Sinne zu denken.

d. Rolle der bakteriellen Begleitkomponente

Nachdem es evident geworden war, daß an der Ausbildung der Ulzera auf der Haut von Nacktmäusen im Anschluß an eine lokale Infektion mit *L. tropica* nicht nur das Protozoon eine bestimmende Rolle spielt, galt es zu versuchen die Natur der morphogenen Begleitkomponenten näher zu bestimmen. Die initialen Abszesse an der Inokulationsstelle, später oft auch als Satelliten und in den regionalen Lymphdrüsen, wie sie zur gewöhnlichen Erfahrung der bisher beschriebenen Versuche gehörten, ließen an die wegbereitende Mitwirkung von bakteriellen Infektionen denken. Im Abszesseiter ließ sich bakteriologisch die im gegebenen Tierhausmilieu endemische Mikroflora nachweisen. Es gehörten zu ihr neben *E.coli* verschiedene Kokkenarten, *Proteus vulgaris* und Angehörige der Gattung *Klebsiella**). Es besteht kein Zweifel, daß diese Flora für den eitrigen Teil des Geschehens wesentlich mitverantwortlich ist.

Daraus ergab sich die weitere Frage, ob sich eine bakterielle Begleitverunreinigung auf das Angehen einer Hautleishmaniose bei der Nacktmaus als notwendig, zweckmäßig, entbehrlich oder gar hemmend erweist. Wir bildeten eine weitere Versuchstierserie, bestehend aus 3 x 5 Nacktmäusen. Die eine Fünfergruppe infizierten wir subkutan in die Schwanzwurzel mit einer Leishmanien-Suspension, der pro Tier 0,15 mg Gentamycin (Refobacin ®) zugesetzt wurden. Das im Eiter nachgewiesene Bakterienarrangement hatte sich nämlich im Resistenztest gegenüber diesem Antibiotikum empfindlich gezeigt.

Die zweite Fünfergruppe der Versuchstiere wurde gleichartig in-

*) Wir danken Frau H.Balg vom Institut für Hygiene und Mikrobiologie des Klinikums Rechts der Isar der Technischen Universität München für die Bakterienbestimmungen und Resistenzprüfungen.

fiziert, nur schloß sich bei dieser für die Dauer von 28 Tagen eine tägliche Behandlung mit 0,15mg Gentamycin pro die i.m. an, wofür dem Inokulum kein Antibiotikum beigegeben wurde. Die restlichen 5 Tiere dienten als Kontrollgruppe. In ihnen wurde der Verlauf, ohne Behandlung mit einem antibakteriellen Medikament beobachtet. Bei den simultan oder postinfektionell mit Gentamycin behandelten Versuchstieren blieben die frühe initiale Bildung von Eiterherden oder deren Exulzerationen aus. Diese Symptome konnten damit vornehmlich als das Werk der bakteriellen Kontamination des Inokulums im Rahmen seiner anderen Komponenten erkannt werden. Ihre mehr oder minder vollkommene Depression führte erst nach 3-6 Wochen zur Bildung kleiner, derber Knötchen an der Infektionsstelle, die wenig Tendenz zeigten eitrig einzuschmelzen oder zu exulzerieren. Zwischen der ersten und zweiten Versuchstiergruppe zeigte sich dabei ein deutlicher Unterschied. Wurde Gentamycin schon dem Inokulum beigemennt, so zeigte sich nur bei einem Tier erst 6 Wochen post infektionem ein Hautknötchen. In ihm ließen sich zwar mit unserer Schnellmethode keine Leishmanien nachweisen, sie dürften vielleicht aber doch in sehr kleiner Zahl vorhanden gewesen sein. Bei den restlichen äußerlich unauffälligen Tieren der Gruppe war an der Infektionsstelle ebenfalls kein Leishmanienbefund zu erheben. Bei der intramuskulär behandelten Gruppe stellten sich die ersten deutlichen Hauterscheinungen an der Infektionsstelle schon nach 3-4 Wochen ein. In diesen gelang der Leishmaniennachweis, die Parasiten entwickelten sich aber im Vergleich zur Kontrollgruppe auch hier nur zögernd und spärlich.

Da somit ein gewisser bremsender Effekt von Gentamycin auf den Verlauf der experimentellen Hautleishmaniose unverkennbar ist, wurde noch ein Behandlungsversuch mit dem Antibiotikum angesetzt. 13 Nacktmäuse wurden subkutan in die Schwanzwurzel mit der üblichen Leishmanien-hautsuspension infiziert. Nach Sichtbarwerden der ersten gelben Knötchen etwa 6-10 Tage post infektionem begannen wir bei 5 Tieren mit einer intramuskulären Gentamycinbehandlung in täglichen Dosen von 0,15mg pro Tier, 30 Tage lang.

Bei einer weiteren Fünfergruppe injizierten wir das Antibiotikum in gleicher Dosis direkt in die erkrankte Hautstelle. Aus den restlichen 3 Tieren wurde die Kontrollgruppe gebildet. Als Erfolg zeigte sich in beiden behandelten Gruppen eine sofortige Rückbildung der zum Teil bereits recht großen eitrigen Abszesse. Auf die Entwicklung der Ulzera, die Vermehrung der Leishmanien, sowie auf den Zeitpunkt der Vernarbung nahm die antibiotische Behandlung keinen deutlichen Einfluß. In allen abschließenden Präparationen fanden sich massenhaft Leishmanien. Bei der intrafokalen Behandlung gingen die Abszesse rascher zurück und die Geschwüre vernarbten wesentlich schneller. Innerhalb von 2 Monaten waren alle Ulzera abgeheilt. Nur bei einem Tier ließen sich unter der Narbe noch vereinzelt Leishmanien finden.

Zur weiteren Klärung der pathogenetischen Bedeutung der Begleitkomponente im Inokulum prüften wir zunächst die Wirkung von subkutanen Verabfolgungen von Suspensionen auf Eiernährböden gezüchteter Reinkulturen der aus Abszesseiter gewonnenen Bakterienstämme. Unabhängig von der Bakterienart und Dosisvariationen reagierten die Nacktmäuse auf die Inokulation von *Proteus mirabilis*, Streptokokken und Klebsiellen lediglich mit passageren, örtlichen Rötungen und leichten Schwellungen an der Infektionsstelle. Sie klangen in wenigen Tagen ab, ohne daß es jemals zur Abszessbildung gekommen wäre. Man hatte dabei den Eindruck, daß die Versuchstiere in der Auseinandersetzung mit diesen Keimen bereits hinlänglich trainiert waren, sofern nicht noch eine zusätzliche Noxe hinzukommt.

e. Hautproben und Hautläsionen:

Unvermeidlicherweise enthielten alle Inokula als weitere unerwünschte Beimengung Zellen und verschiedene Gewebstrümmer aus der Haut von Spendertieren und zwar in nicht unerheblicher Dichte. In einem weiteren Versuch wurde daher eine Information darüber eingeholt, wie unsere Empfängertiere lokal auf die Einimpfung der üblichen Dosis solchen Materials reagieren, wenn es keine Leishmanien enthält. Von einer normalen, gesunden

Nacktmaus mittleren Alters wurden Hautstückchen gleicher Größe aus der gleichen Körperregion entnommen, wie es bei der Vorbereitung von Infektionsmaterial für die Leishmania-Versuche geschah. Die alsbaldige Intoleranzreaktion auf die Einimpfung von Suspensionen solcher "blinder" Hautproben war zwar immer deutlicher, als im Falle der Bakterienreinkulturen, verlief aber stets nur unter dem Bilde einer vorübergehenden, örtlichen Entzündung, ohne je zu vereitern oder gar in Ulkusbildung zu münden. Das geschah regelmäßig nur, wenn Leishmanien mit im Spiel waren.

Es ist evident, daß unter den mitbestimmenden Faktoren bei der experimentellen Orientbeule der Nacktmaus, den Leishmanien tatsächlich eine tonangebende Rolle zukommt, die von keiner Begleitkomponente im Inokulum allein übernommen werden kann. Es ist indessen in unseren bisherigen Experimenten nicht minder deutlich geworden, daß alle Einzelkomponenten des Inokulums vereint am Hautorgan eine Läsio continui anstreben, als deren unvermittelbarer Nutznießer vor allem die Leishmanien in Verdacht stehen müssen. Es gibt eine beachtliche Literatur, aus der hervorgeht, daß *L.tropica* sich offenbar gern an Hautstellen etabliert und dort zur Ausbildung einer Orientbeule Anstoß gibt, die anderweitig vorgeschädigt sind (sekundäre Hautleishmaniase). Wir versuchten zu prüfen, ob es sich dabei um Zufälligkeiten, oder ein im Experiment nachvollziehbares, pathogenetisches Prinzip handelt.

Wir beimpften 2 x 3 Nacktmäuse intraperitoneal massiv mit einer *L.tropica*-Suspension. Die erste Dreiergruppe erhielt simultan an der Schwanzwurzel mittels einer Impflanzette Skarifikationen, die mit einer Proteus-Reinkultur oberflächlich infiziert wurden. Die zweite Dreiergruppe wurde in gleicher Weise ohne Bakterien behandelt. Wir unterstellten dabei, daß einige der in großer Zahl intraperitoneal, also an einen ungeeigneten Infektionsort verbrachten Parasiten, im Wirtskörper passiv oder aktiv, das ihnen am Hautorgan angebotene Vorzugsbiotop finden und sich dort etablieren würden.

Bei der ersten Gruppe entwickelte sich erwartungsgemäß eine vorübergehende, leicht eitrig-eitrige Wundinfektion, die jedoch rasch abheilte. Als Komplikation entstanden bei allen Tieren innerhalb von 14 Tagen in der Inguinalgegend Lymphknotenabszesse, die sich schnell säuberten und abheilten. Auffällig waren außerdem einige stecknadelkopfgroße, gelbe Knötchen an den Mundwinkeln. Ihre Untersuchung ergab 8 Wochen post infectionem bei einem Tier reichlich Leishmanien. Sie hatten also den Weg zurück in die Haut gefunden, nicht aber an die ihnen vorgezeichnete Stelle.

Die Tiere ohne zusätzliche, äußerliche, bakterielle Infektion der artifiziellen Hautwunden, entwickelten im Prinzip die gleichen Erscheinungen, nur etwas langsamer. Hier wurden keine Leishmanien wiedergefunden. Gemeinsam war also beiden Gruppen, daß die Hautskarifikationen keine Leishmanien angezogen hatten, obwohl intraperitoneal verabfolgte Hautleishmanien ihr Vorzugsorgan sehr wohl wiederzufinden wissen.

f. Spontane Viszeralisierung von *L.tropica*:

Schon vom Beginn dieses Jahrhunderts an, bis in die jüngste Zeit ist in den Erfahrungsberichten über das Infektionsmodell Labormaus-*L.tropica* davon die Rede, daß es nur einer kleinen Zahl intradermaler Passagen bedürfe, um einen herkunftsmäßig klar als *L.tropica* gekennzeichneten Stamm in seiner topischen Präferenz zu verunsichern. Es komme dann zum mindesten bei einigen Experimentalwirten zu einem spontanen Befall der Viszera mit zugeordneter Symptomatik (Kachexie, Hepatosplenomegalie). Trotz des großen theoretischen Wertes dieser Beobachtung ist sie niemals systematisch weiterverfolgt worden.

Auch wir machten nach Beendigung des unter Ziffer a. beschriebenen Versuches die Feststellung, daß sich nach 3-monatiger Versuchsdauer bei wenigstens 5 Mäusen spontan, zusätzlich auch in den inneren Organen Leishmanien angesiedelt hatten. Tupfpräparate von Leber, Milz und Knochenmark zeigten massenhaft Leishmanien. Äußerlich hatte sich dieses Ereignis durch zuneh-

mende Abmagerung angekündigt, innerlich durch exzessive Milzvergrößerung und blaurote Verfärbung.

Das aus den inneren Organen stammende Parasitenmaterial wurde intraperitoneal auf Goldhamster, Rötelmaus, Nacktmaus und Albinomaus verimpft. Es sollte geprüft werden, ob sich von unserem ursprünglich rein dermatotropen Leishmanienstamm ein dauerhafter viszerotroper Klonus abzweigen läßt, für dessen Entstehung die unphysiologischen Manipulationen des Experimentators verantwortlich zu machen wären, also vor allem die Ausklammerung des natürlichen Vektors. Vergleichend wurden die Parasiten auch auf hierfür als empfänglich bekannte Wirte intrakutan weiterverimpft und so die Hautlinie in der gleichen Weise fortgeführt.

Es ergaben sich bei den i.p. infizierten Nacktmäusen nach etwa 3 Wochen Abszesse in der Inguinalgegend, die sich nach außen entleerten. Bei der Sektion am 20. Tage post infectionem, fanden sich entzündlich verbackene, z.T. eingeschmolzene Lymphknoten im Abdominalraum. Sie enthielten reichlich Leishmanien. Es bestand zwar eine leichte Hepatosplenomegalie und Hodenschwellung, jedoch enthielt das RES der inneren Organe ebenso wie das Knochenmark keine Leishmanien. Die "Blindverimpfung" von Milz- und Lebersuspension erbrachte später in den abdominalen Lymphknoten der Empfängertiere nochmals einen positiven Leishmanienbefund, in weiteren Passagen riß die viszerale Linie in der Nacktmaus jedoch endgültig ab. Im Goldhamster gelang deren Entwicklung von Anfang an nicht. Die Albinomaus entwickelte an der Stelle des Stichkanals der intraperitonealen Infektion nach 4 Wochen einen gut erbsgroßen, subkutanen Knoten, der in der üblichen Weise exulzerierte. Im Rand der Abszesshöhle und im Eiter ließen sich Leishmanien nachweisen. Die Viszera und das Knochenmark erwiesen sich später als frei von Parasiten.

Als entscheidend bei all diesen artifiziellen Viszeralisierungsversuchen darf gewertet werden, daß keine der beiden, für die in vivo Stammhaltung von echten *L.donovani* besonders gut geeigneten Wirtstierarten, also Goldhamster und Rötelmaus, den spontanen viszeralen Ökotypen unserer *L.tropica* in ihren inneren

Organen Vermehrung gestatten, so daß die Parasiten nicht in viszerale Dauerpassage zu bringen waren.

Der gelegentliche "Irrgang" von *L.tropica* in die Abdominal-region und dort vor allem in die lymphatischen Gewebselemente, scheint eine Spezialität der Labormaus und ihrer züchterischen Abkömmlinge zu sein. Die viszeralen Varianten erweisen sich jedoch im Übertragungsexperiment als wenig stabil und keinesfalls von topischer Spezifität für das artfremde Gewebe. Auf Dauer sind sie schließlich nur wieder über Hautpassagen am Leben zu halten. Im kühlen Milieu wurden übrigens keine Viszeralisierungen bemerkt.

g. Reinfektionsmöglichkeiten:

Obwohl den besonderen Verhältnissen bei der nackten Maus generell kein gültiger Modellwert für die Infektion des Menschen mit *L.tropica* zukommen dürfte, interessierte schließlich doch bei unserem Modell noch die Frage, nach der Möglichkeit erneuter, erfolgreicher Infektionen nach einmal überstandener gleichartiger Hautleishmaniose.

Wir wählten daher 5 Nacktmäuse aus, deren experimentelle, lokalisierte Hautleishmaniose seit 4 Wochen abgeheilt und vollständig vernarbt war. Die Reinfektion erfolgte mit etwa gleicher Dosis desselben Stammes in die Narbenregion. Bei 2 der 5 Tiere gelang es auf diese Weise nach 24 Tagen erneut eine ulzeröse Hautleishmaniose hervorzurufen. Ihr Verlauf unterschied sich nicht von dem der Erstinfektion. In den neuen Ulzera konnten wieder reichlich Leishmanien gefunden werden. Die restlichen Tiere der Gruppe erwiesen sich gegenüber der Reinfektion als refraktär. Es entstanden am Ort der Reinfektion keine Ulzerationen mehr und das gesamte Hautgebiet der Infektionen war frei von Parasiten. Die von allen Voruntersuchern beklagte individuelle Variationsbreite im Verhalten der Versuchstiere verhinderte auch beim letzten Versuch eine klare allgemeingültige Antwort auf die Frage der Reinfektionsmöglichkeit.

C. Diskussion

Bereits 8 Jahre nachdem der Erreger der Hautleishmaniose des Menschen durch Wright (1903) (56) endgültig bekannt gemacht wurde, überraschte Gonder (1913) (17) mit seinem Bericht, daß *L. tropica* in ihrer Kulturform intrakutan und intraperitoneal auf die Labormaus übertragbar sei. Seitdem bemüht man sich um dieses Infektionsmodell und seine Verbesserung durch Standardisierung. Was seinen Wert in Frage stellt, formulierten Dobrzhauskaya et al. (1976) (9) wie folgt: Die Beziehungen zwischen Antikörperbildung auf der einen, sowie Schwere und Dauer der klinischen Erscheinungen auf der anderen Seite variieren von Tier zu Tier. Ähnlich äußern sich viele andere Autoren. Im letzten Jahrzehnt schien die stagnierende Entwicklung auf diesem Gebiet allerdings in Bewegung geraten zu sein. Seit bekannt ist, daß die Immunantwort des Wirts auf das Eindringen von Leishmanien prinzipiell vom zellgebundenen Typ ist, bemühte man sich zunächst um Sensibilisierung der Mäuse durch präinfektionelle Thymektomie (Preston & Dumonde 1971 (44), Behbehani 1973 (2)).

Dadurch glaubte man die immunologische Kettenreaktion an ihrer Achillesferse zu treffen. Es ergab sich aus diesen Arbeiten, daß die künstlichen Hautläsionen in thymektomierten Mäusen zur Heilung längere Zeit brauchten, als diejenigen in den nicht operativ vorbehandelten Kontrollen. Parasitierte Makrophagennester persistierten in den Läsionen thymektomierter Mäuse länger. Das Ergebnis ist jedoch von der Infektionsdosis abhängig: Ein starkes Inokulum und die Thymektomie können sich in ihrer Depressionswirkung auf die Immunantwort gegenseitig vertreten. Seit 1962 erstmals in Glasgow die Nacktmutter der Labormaus gezüchtet wurde, sind diese Tiere auf den verschiedenen Gebieten der experimentellen Pathologie nützlich gewesen (Rygaard & Povlsen 1977, (48), Fogh & Giovanella 1979 (16)). Genaue histologische Kontrollen zeigten jedoch, daß selbst bei homozygoten nu/nu-Mäusen ein lymphoepitheliales Thymusrudiment vorhanden ist, dem man unterstellen dürfe, daß es die Bildung von T-lympho-

zyten in gewissem Umfange über die Milz inspirieren kann (Holup et al 1975, 1978 (21,22), Groscurth et al 1975 (18)). Die rudimentäre Thymusdrüse erinnere in Größe und Struktur an die niederer, wechselwarmer Vertebraten. Bei Hybriden nu/+ kann es bei völliger Haarlosigkeit zu normaler Thymusentwicklung kommen. Wir glauben mit solchen Versuchstieren gearbeitet zu haben und betrachten ihre Haarlosigkeit nicht als zwingendes Indiz für Thymusrudimentation. Es ging uns aber vor allem um das Merkmal "haarlos", das die Beobachtung der Hautläsionen begünstigt. In vitro Testungen der Makrophagenaktivität gegenüber Leishmanien ergaben eine relative Insuffizienz der zellgebundenen Abwehr bei "Nacktmäusen" (Chang & Chiao 1978 (8)). Rygaards Feststellung, es handle sich bei dem nu-Gen um ein einzelnes, autosomales, rezessives Gen, hat uns überrascht. Wie mit ihm das Parallelmerkmal Thymusrudimentation und Immunschwäche gekoppelt sein soll, scheint etwas unklar; ebenso die Frage, ob beide Merkmale auch unabhängig voneinander ihren eigenen, genetischen Weg gehen können. Jedenfalls fällt auf, wie rasch sich das rezessive nude-Gen bei Einkreuzung felltragender Zuchtstämme spätestens von der F2-Generation an durchzusetzen beginnt und die nackten Phänotypen dann bezüglich dieses Merkmals reinerbig werden.

Weber (1977) (54) konnte zeigen, daß nicht jeder aus "Orientbeulen" des Menschen isolierte Leishmanienstamm auch im Versuchstier sich als dermatotrop erweist. Zeigt er sich jedoch als von topischer Spezifität für das Hautorgan, so behält er diese Eigenschaft in beliebig vielen Passagen durch die Lippe des Goldhamsters bei. Bei der Labormaus und ihr nahestehenden züchterischen Varianten gibt es die beschriebenen Ausnahmen. Was Piekarski & Meske (1964) (43) von der Infektion der Maus mit Kulturformen von *L. tropica* sagen, trifft allerdings in dieser Form für unser Material nicht zu. Keineswegs resultiert normalerweise aus der intraperitonealen Infektion eine viszerale Lokalisation und Vermehrung und aus der sub- oder intrakutanen eine solche, die auf die Infektionsstelle in der Haut beschränkt ist.

Ein Teil der Literatur stützt leider diese Fehleinschätzung. Die topische Spezifität eines Leishmanienstammes ist nicht minder deutlich genetisch vorbestimmt, als die Empfänglichkeit des Wirtes.

Es mußte also für unsere Arbeit zunächst ein Stamm mit stabilen, dermatotropen Eigenschaften im Versuchstier, vom Menschen beschafft werden. Wir fanden einen solchen bei einem Rückkehrer aus einem der größten, zusammenhängenden, endemischen Gebiete der Alten Welt, dem Mittleren Osten. Ob es sich bei dem Leishmanienstamm um *L.tropica major* oder *L.tropica minor* gehandelt hat, wagen wir nicht zu entscheiden, weil der Tierversuch darüber keine Auskunft geben kann. Jedenfalls erzeugte der Erreger bei den genannten Ehepartnern feuchte Ulzera, wenn auch von unterschiedlicher Größe.

Es wurde ausschließlich mit der zellparasitischen, amastigoten Phase von *L.tropica* gearbeitet. Ein solches Vorgehen ist in mancherlei Hinsicht unbiologisch. Der wirbellose Wirt und der Formenwechsel des Parasiten in ihm, sind keine untergeordneten Randerscheinungen im Entwicklungskreis der Parasiten, sondern gleichwertige Hauptakteure, denen die natürliche Erhaltung charakteristischer Eigenschaften eines Leishmanienstammes, in hohem Maße zuzuschreiben ist. Künstliche Verkürzung und Verarmung des Entwicklungsweges mit Hilfe der Injektionsspritze bringt diese Eigenschaften in Gefahr. Jedenfalls sollen auf diese Weise gesetzte Läsionen pathologisch nicht mit den natürlichen Infektionen durch promastigote Formen aus dem Vektor gleichgesetzt werden. Die späte morphologische Konvergenz der natürlichen und artifiziellen Orientbeule entkräftet diese zurückhaltende Ansicht nicht. Ob allerdings die von den meisten Untersuchern, zuletzt auch von Packchanian 1979 (40), bei Infektionen von Mäusen bevorzugten Kulturformen der Parasiten mit den metazyklischen, promastigoten aus dem Vektor gleichwertig sind, darf aus guten Gründen bezweifelt werden. Auf alle Fälle ist seit langem erwiesen, daß man Versuchstiere erfolgreich sowohl mit begeißelten, wie mit den unbegeißelten Entwicklungsformen von

L.tropica infizieren und den Parasiten in Experimentalwirten beliebig passieren lassen kann. Die Möglichkeit einer für den Parasiten schadlosen Direktübertragung von Vertebrat zu Vertebrat unter Umgehung seiner natürlichen Vektoren, ist von der Natur wahrscheinlich vorgesehen. Die Erfahrungen und Diskussionen, die mechanische Übertragung von Leishmanien in Sonderfällen betreffend, stützen diese Auffassung.

Ein Mangel des Arbeitens mit Rundformen wurde bereits angesprochen. Es ist die Schwierigkeit, ja Unmöglichkeit, quantitative Aussagen über die Parasitenzahl in der jeweiligen Infektionsdosis zu machen. Wo es von Voruntersuchern versucht wurde, darf man in den Dosisangaben kaum mehr als grobe Schätzungen sehen, wenn nicht gar nur Versuche, einer Form zu genügen. Es ist durch die grundlegenden Untersuchungen von Bryceson & Dumonde 1974 (6) an Meerschweinchen, infiziert mit *L.enrietti*, bekannt, daß sich analog zu vielen anderen Protozoeninfektionen die Dauer der Inkubationszeit umgekehrt proportional zur Größe der Infektionsdosis verhält. Packchianian 1979 (40) und Bjorvatn & Neva 1979 (4) bestätigten dieses Prinzip auch für die *L.tropica*-Infektion der Maus. Mit steigender Dosis wächst auch die Schnelligkeit des Gesamtverlaufes und die Entwicklung einer Immunreaktion vom verzögerten Typ. Ihr desensibilisierender und defensiver Charakter ist bekannt. Immuntoleranz wird offenbar auch mit höchsten Infektionsdosen nicht induziert. Die Infektionsdosis nimmt also auf die Entwicklung der von ihr induzierten Hautmorphen Einfluß. Man sollte die Möglichkeiten jedoch auch nicht überschätzen. Kellina 1962 (25) zeigte mit Leishmanienmaterial aus dem asiatischen Süden der Sowjetunion am Infektionsmodell der Maus die Grenzen auf. Bei Infektion mit gleichen Dosen zeigen verschiedene Stämme von *L.tropica* nur anfänglich gleiches Verhalten. Von einer Woche post infektionem an entwickelt sich ein virulenter deutlich progressiv, die avirulenten dagegen bewirken nur schwache und vorübergehende, makroskopisch oft kaum nachweisbare Infiltrationen. Sie gehen schließlich binnen einer Woche unter. Gemeinsam sei allen Inokula, daß der größte Teil

der verabfolgten Parasiten nach der intrakutanen Verabfolgung an Mäuse, binnen 24 Std. in loco zugrunde geht. Das Infektionsbild wird dann von wenigen, an zufällig günstigen Ort gelangten, überlebenden Parasiten bestimmt, von deren Zahl nicht erwiesen ist, daß sie mit der im ursprünglichen Inokulum noch in irgendeiner quantitativen Beziehung steht. Das ist kein Argument gegen quantitatives Arbeiten, wohl aber dafür, es nicht formalistisch zu überschätzen.

Die erste zu beantwortende Frage betraf den für die experimentelle Hautleishmaniose geeignetsten Ort am Körper der Nacktmaus. Sie wurde angeregt durch die Angaben von Zéledon et al 1969 (57) an Infektionen des Goldhamsters mit *L.braziliensis*. Es hatte sich bei diesen ergeben, daß die Infektion nicht empfänglicher Körperregionen nicht nur die Inkubationszeit verlängert, sondern bei manchen Tieren sogar überhaupt nicht zum Infektionserfolg führte. Die Autoren neigten dazu, solche Mißerfolge mit der lokalen Hauttemperatur in Beziehung zu setzen, betonten aber, daß das alles bei Mäusen sehr viel komplizierter sei.

Wir fanden erwartungsgemäß ebenso wie Packchianian (1979) (40) bei der Nacktmaus keine signifikanten Unterschiede in der Eignung bestimmter Körperregionen für die Infektion, sieht man von vielleicht unerheblichen Unterschieden in der Vernarbungsgeschwindigkeit und Ausbildung exzessiver Verhornungsanomalien ab. Bestimmend für die Wahl einer bestimmten Stelle am Körper des Experimentalwirtes sollten pragmatische Gründe sein. Die dorsale Schwanzwurzelgegend und die über dem Kreuzbein ist für das Tier relativ wenig belastend und in jedem Falle gut einzusehen. Inokulationsvolumina von mehr als 0,1 ml, wie wir sie benutzten, sind intra- oder subkutan nicht überall gleich gut unterzubringen, vor allem nicht auf der Stirn, in der Nasengegend, der Ohrmuschel, dem Schwanz oder an den Pfoten. Die meisten dieser Stellen wurden daher von uns auch garnicht erst systematisch getestet, obwohl sie vielversprechend sind. Es scheidet ferner die Bauchregion aus. Sie ist schlecht einsehbar und stets in Gefahr überstark bakteriell zu verunreinigen. Außerdem droht dort der Durchbruch

großer Ulzera in den Bauchraum.

Die Ausbildung von Hautläsionen war auf den Infektionsort beschränkt. Sie waren immer scharf begrenzt. Nur gelegentlich kam es zur lymphogenen Streuung in die Umgebung und Ausbildung begrenzter metastatischer Tochterläsionen. Flächenhaft ausgedehnte Hautveränderungen beobachteten wir bei unserer Infektionstechnik nicht. Zur Ausbildung von Infektionsmorphen, die denen der diffusen rezidivierenden Hautleishmaniose des Menschen entsprochen hätten, neigten unsere Nacktmäuse nicht. Kachexie und viszerale Generalisation traten, wenn überhaupt, dann bei Tieren auf, deren Hautulzera der Regel entsprachen und keine bestimmte Lokalisation zeigten.

Das Stichwort Haut- und Umgebungstemperatur regte den zweiten Teil unserer ersten Versuchsreihe an, die Einbringung infizierter Tiere in verschiedene Milieutemperaturen. Über dieses Thema gibt es eine beachtliche Literatur (Weber 1977) (54). Es fehlt auch nicht an Vermutungen, daß der merkwürdige topische Dualismus Dermatotropie-Viszerotropie etwas exogenes, Ausdruck anderer Temperaturpräferenzen der jeweiligen Stämme sein könnte. Seit den klassischen Untersuchungen von Eliseev & Strelkova (1966) (12) an Sandrennmäusen im sowjetischen Zentralasien ist bekannt, daß sich bei Nagetieren die Temperatur an verschiedenen Stellen der Körperoberfläche je nach den Umgebungsverhältnissen schadlos weit von der nahezu konstanten Kerntemperatur entfernen kann. Es kommen je nach Jahreszeit und Witterung an den Akren Differenzen bis zu 20°C vor, die sich ebenso weit von der Kerntemperatur entfernen. Wir boten unseren Nacktmäusen im kühlen Milieu reichlich Nistmaterial, das zu großen Nestbauten verarbeitet wurde und Ausfälle an Unterkühlung verhinderte. Es hatte aber trotzdem nicht den gleichen wärmenden Effekt auf die Körperoberfläche der Maus, wie die Umgebung im gleichmäßig klimatisierten Warmraum. Die meisten bisher publizierten Untersuchungen ergaben eine Hemmwirkung auf die Leishmanieninfektion, wenn die Versuchstiere bei Umgebungstemperaturen von + 30-35°C gehalten wurden. Diese Wirkung kann bis zur Abtötung der Leishmanien und zur Spontan-

heilung führen. Hayatee (1970) (20) sah keinen deutlichen Einfluß einer Umgebungstemperatur von + 4°C auf die experimentelle Hautleishmaniose der weißen Maus, erzeugt mit einem venezolanischen Stamm. Von Wachstumsbeeinträchtigungen der Parasiten und Läsionen bei niedrigen Temperaturen ist jedenfalls nirgends die Rede, eher von der Neigung zum Gegenteil.

In unseren Versuchen entsprach die Wirkung einer kühlen Umgebung auf die Infektion quantitativ gesehen etwa der einer Gentamycintherapie. Man hatte bei der Beobachtung der Entwicklung von Läsionen den Eindruck, als ob ein Erregerstamm mit geringerer Virulenz am Werk gewesen wäre. Ein solcher Befund ist bisher noch niemals erhoben worden. Bei seiner Interpretation, vor allem aber Transposition in die medizinische Wirklichkeit scheint vorläufig Zurückhaltung geboten. Die geographische Verbreitung der Hautleishmaniose wird in erster Linie durch die Vektoren und deren spezialisierte klimatische Ansprüche bestimmt und limitiert (Krampitz 1979a) (29). Aus dem südlichen Spätsommerurlaub nach Mittel- und Nordeuropa mitgebrachte *L.tropica*-Infektionen entwickeln sich auch bei uns während der kalten Jahreszeit in der Regel nicht aberranter, als im Süden. Den Schlüssel zum Verständnis unserer experimentellen Befunde könnte aber die bakterielle Begleitkomponente liefern, deren Wachstum in erster Linie beeinflusst wird. Bjorvatn & Neva (1979) (4) verwiesen auf die bekannte Sequenz der zellulären Abwehrreaktion, mit der die artifizielle Hautinfektion vom Wirt histologisch beantwortet wird. Sie ist für eine erfolgreiche örtliche Ansiedlung der Protozoen sicher von großer Bedeutung: in den ersten Wochen post infektionem dominieren die polymorphkernigen Granulozyten und Makrophagen, später beherrschen Lymphozyten und Plasmazellen das Bild. Die sofortige Zuwanderung von Makrophagen begünstigt sicher die Wirtszellfindung der eingepflichten Parasiten, polymorphkernige sind umgekehrt als Vernichter gefährlich. Neva et al (1979) (37) weisen ergänzend darauf hin, daß auch meßbar gute humorale, wie zellgebundene Immunantworten des Wirtsorganismus keine Gewähr dafür bieten, daß nicht Leishmanien in den Läsionen persistieren. Wenn der Prozeß in die

Abräum- und Restitutionsphase überzugehen versucht, sind die von der Hautleishmaniose her bekannten mit Parasiten beladenen Wirtszellmassen proliferiert. Sie lösen sich im Spätstadium schließlich in einzelne, meist tiefe und leicht zu übersehende Wirtszellnester auf, der Prozeß heilt ab und bringt sie zum Absterben. Künstliche Entzündungsreize (wahrscheinlich auch die von uns gesetzten) steigern nach den in vitro Testungen von Bursuker & Goldman (1979) (7) die Bildung mononukleärer mobiler Phagozyten mit gesteigerter Phagozytosebereitschaft im Knochenmark. Wir haben diese Sequenz zwar nicht erneut im histologischen Bild verfolgt, wohl aber in vielen Tupfpräparaten festgestellt, daß offenbar relativ wenige, nur mit Schwierigkeit im Gewebe aufzufindende Leishmanien in den sich entwickelnden Hautläsionen genügen, um ihre Morphogenese in eine charakteristische Richtung zu zwingen. Anderen Komponenten des Inokulums gelingt das allein nicht. Es wird verständlich, daß der direkte Parasitennachweis in einem sich entwickelnden Ulkus nicht initial, sondern erst von der 2. Woche post infektiösem ab Aussicht hat, mit hinlänglicher Sicherheit zu gelingen.

Man wird jedoch unumgehbaren anderen Bestandteilen des Inokulums die Bedeutung einer Hilfestellung bei der Pathogenese zuerkennen müssen. Am vollkommensten gelingt die künstliche Orientbeule auf der Nacktmaus als Kombinationseffekt. Eine mäßige bakterielle Superinfektion mit ubiquitären, nicht allzu virulenten Keimen scheint nicht ungünstig. Es kommt durch diese, immer im Verein mit den gleichzeitig wirksamen anderen Noxen zu einer begrenzten Gewebseinschmelzung, wobei die Abszeßränder ein besonders günstiges Ansiedlungsmilieu für die Protozoen und ihre Wirtszellen darzustellen scheinen. Dobrzhan'skaya 1977 (10) und Karimov et al 1977 (24) haben sich mit der Bedeutung der Bakterienflora, die die experimentelle Infektion der Maus mit *L. tropica* major begleitet, auseinandergesetzt. Sie sahen gewisse Parallelen zwischen den analogen Läsionen bei Mensch und Tier. Im übrigen fanden sie nahezu das gleiche Spektrum von Bakterienarten, das auch uns begegnet ist. Von der Bakterien-Kontamination wird jedoch nur Nega-

tives berichtet (Septikämie, Siechtum, Kachexie, Amyloidbildung), mögliche positive Konsequenzen sind nicht erörtert. Wir halten es nicht für angemessen, im funktionellen Gewicht der begleitenden Bakterieninfektion a priori immer nur eine negative Größe zu sehen, wenn es um die "naturgetreue" Rekonstruktion einer Orientbeule auf der Mäusehaut geht.

Die antibakterielle Therapie mit dem Antibiotikum Gentamycin erwies sich in unseren Versuchen unabhängig von der Applikationsart auch für die Leishmanien nicht als sonderlich bekömmlich. Antibiotika stehen im Verdacht, auch in der Therapie der Leishmaniasen vielleicht noch etwas hergeben zu können (Krampitz 1979b) (30). Es gibt einen klinischen Erfolgsbericht von Schüle et al (1974) (49), wonach sich Gentamycin bei Fällen von eingeschleppter Hautleishmaniose als wirksam erwiesen haben soll. Die Frage einer solchen direkten Wirksamkeit auf Leishmanien kann überzeugend nur über in vitro-Testungen und abgestufte Dosisvariationen auch in vivo beantwortet werden. Sie hätten außerhalb unseres Themas gelegen. In vivo ist vorrangig an einen mittelbaren Einfluß auf dem Nebenweg über die begleitende Bakterienflora zu denken. Wir haben hier erstmals versucht, die Wirkung von Gentamycin auf die experimentelle Hautleishmaniose im Tierversuch zu prüfen. Das Medikament verhindert, beeinträchtigt oder verzögert in jedem Falle die initialen Abszeßbildungen an der Injektionsstelle, wirkt also in der angewandten Dosierung tatsächlich zunächst einmal auf die bakterielle Begleitkomponente. Die Kausalkonnxen sind jedoch noch nicht klar durchschaubar. Daneben ist immer eine deutliche Bremsung der Leishmanienentwicklung zu bemerken, die sich nach Beimengung des Medikamentes zum Inokulum relativ am deutlichsten bemerkbar macht. Die Beeinflussung der Protozoen könnte eine Dosisfrage sein. Wir haben sie nicht weiter verfolgt. Auf dem internationalen Colloquium über die Ökologie der Leishmaniasen 1974 in Montpellier fand im Anschluß an ein Grundsatzreferat von Jadin & Le Ray (23) über die Kulturmedien für Leishmanien eine Diskussion über die mögliche Schädigung der üblichen und unentbehrlichen Antibiotikazusätze zu den leblosen Nährböden statt. Es wurde vor allem von russischen Experten zu bedenken gegeben,

daß Penicillin und Streptomycin in den Kulturen von *L.tropica* major zum völligen Verlust der Virulenz führen könne, aber nicht müsse. Auch eine schädigende Einwirkung dieser Antibiotika auf die membranständigen Oberflächenantigene der Leishmanien wurde erwogen. Geklärt hat auch diese letzte Diskussion über das Problem nichts. Schon jetzt aber darf zu einer simultanen antibiotischen Behandlung insbesondere größerer Leishmanienulzera geraten werden. Eshleman & Botkin (1976) (14) praktizierten sie systematisch bei einem Fall von *L.braziliensis*-Infektion, die ihr Patient sich beim Dienst in der Panama-Kanalzone zugezogen hatte. Sie kombinierten mit gutem Enderfolg die spezifische Antimontherapie mit Erythromycin zur Dämpfung der Bakterienbesiedlung des Ulkus am rechten Ellenbogen. Bei solchen Kombinationsbehandlungen ist daran zu denken, daß das gewählte Antibiotikum möglichst auch die aus bekannten Gründen oft recht therapieresistenten Klebsiellen mit erreicht.

Leishmanien mit topischer Spezifität für das Hautorgan zeigen in praxi mitunter eine gewisse Vorliebe, sich an Hautstellen anzusiedeln, zu vermehren und eine Orientbeule zu erzeugen, die bereits anderweitig mechanisch vorgeschädigt sind, sei es auch nur geringgradig. Man kannte diesen Zusammenhang rein empirisch seit jeher und nahm ihn z.B. vor Kenntnis der Vektoren einmal zum Anlaß, über Schmierinfektionen oder Wasch- und Badewasser als Quelle für die Erreger nachzudenken Finger 1911 (15), Kojevnikov 1944 (28) brachte dann als erster die Beziehungen zwischen Trauma und Orientbeule wieder in Erinnerung. Er deutete seine Beobachtung von der Ansiedlung und Verbreitung von *L.tropica* in der Haut am Orte ihrer traumatischen Vorschädigung allerdings so, daß die Vektoren Wundränder und entzündliche Infiltrate besonders gern zum Stechen auswählten. Kochs & Kochs (1954) (27), die übrigens seinerzeit in Saudiarabien, der Herkunftsgegend unseres Leishmanienstammes ihre Erfahrungen sammelten, prägten den Begriff der sekundären Hautleishmaniose, als etwas im endemischen Gebiet geläufiges. Sie verstanden darunter die ~~Auffpflanzung~~ der Leishmania-Infektion auf irgendwelche präexistierende epidermale

oder kutane Gewebsdefekte: Verbrennungsnarben, Steinwurfverletzungen, Ekzeme, Pyodermien, Narben und Keloide. Es gibt bis in unser Zeitalter der Gastarbeiter- und Touristikmedizin hinein kasuistische Einzelberichte, aus denen ein solcher Zusammenhang hervorgeht und die die Irrigkeit des alten Verdachtes belegen, der Vorgang könne etwas mit den Stichgewohnheiten der Vektoren zu tun haben (Siegenthaler 1954 (50)). Die überzeugendste Erklärung für diese gesicherten Beobachtungen ließe sich wohl aus der oben erwähnten Dynamik der oberflächennahen entzündlich-zellulären Infiltrationen gewinnen.

Wir deuten unsere Erfahrungen mit der bakteriellen Begleitinfektion und der zuträglichen initialen Abszeßbildung am Orte der artifiziellen Infektion mit *L.tropica* ebenfalls im Sinne dieses Prinzips. Die Leishmanienvermehrung imponierte hier auch als etwas sekundäres, für das die Hautvorschädigung eine Art Hilfestellung darstellte. Es schien darüber hinaus verlockend zu prüfen, ob das Prinzip im gezielten Tierversuch nachvollziehbar sein könnte. Die Versuche mißlangen, mittels einfacher oder bakteriell noch einmal besonders kontaminierter Hautskarifikation dermatotrope Leishmanien an die vorgezeichnete Stelle zu dirigieren. Gleichzeitig ergab sich aber auch deren prinzipielle Bereitschaft und Fähigkeit zur Rückkehr und Ansiedlung in der Haut, wenn auch an anderer als der vorgezeichneten Stelle. Durch mehrfache Wiederholung solcher Versuche wäre es zweifellos auch einmal gelungen, den Ansiedlungsort erfolgreich zu manipulieren. Die bedingenden Verhältnisse einer Sekundärleishmaniasis erwiesen sich im Experiment jedenfalls als komplizierter, als mancher kasuistische Bericht vermuten läßt.

Die für den Menschen infektiösen *Leishmania*-Arten werden konventionell vorwiegend danach unterschieden und benannt, an welchem Ort des Körpers sie sich ansiedeln, um diesen entsprechend zu schädigen. Diese "ökologische" Bestimmungsmethode ist mit zunehmender Erfahrungskennntnis von diesen Parasiten mehr und mehr zum Gegenstand heftiger Kritik geworden. Sie entzündet sich gern an der Beobachtung, daß sich im Infektionsverlauf das eine Krankheits-

bild in Richtung auf ein anderes entwickelt. Alle bisher beim Menschen festgestellten Leishmaniaarten und- stämme zeigen eine mehr oder minder ausgeprägte Tendenz zur Körperoberfläche, an der allein sie der Vektor erreichen kann. Die Lokalisation am Hautorgan kann temporär (initial oder terminal) oder permanent sein, gleichgültig ob und mit welchen klinischen Erscheinungen sie einhergeht. Ihr biologischer Sinn ist durchschaubar. Eine auf unterschiedlicher Organpräferenz beruhende Artunterscheidung wird durch zentrifugale Episoden nicht ernsthaft erschüttert. Sie wird aber entscheidend verunsichert durch das entgegengesetzte, das zentripetale Phänomen. Für ein plötzliches Umschalten auf viszerotropes Verhalten bislang stabil dermatotroper Stämme in bestimmten Versuchstierarten gibt es kein durchschaubares biologisches Motiv. Das Infektionsmodell Labormaus-*L.tropica* hat manches zur Verunsicherung konventioneller Vorstellungen von einer Leishmania-Art und ihrer Definition beigetragen. Schon Gonder (1913) (17) beobachtete diese merkwürdige Viszeralisation. Daß die intrakutane Verabfolgung von *L.tropica* in ihrer Kulturform in der weißen Maus zu chronischem Siechtum, Abmagerung, Milzvergrößerung und Eindringen der Parasiten in die Abdominalorgane führen könne, bestätigte Laveran (33) schon ein Jahr später. Das geschah in der Folgezeit noch mehrfach bis in die jüngste Zeit (Packchanian 1979 (40), Bjorvatn & Neva 1979 (4)). Diese drei Autoren weisen dabei in Übereinstimmung mit Weintraub et al (1976) (55), Pérez et al (1979) (41) und Handman et al (1979) (19) auf die unterschiedliche Bereitschaft verschiedener Mäusezuchtstämme hin, solche Generalisierungen der Parasitenbesiedlung zu gestatten. Sie ist jedoch niemals an eine bestimmte Wirtstier-Zuchtlinie gebunden. Dreierlei ist typisch:

1. Das Viszeralisierungsphänomen ist an Experimentalwirte gebunden, die Abkömmlinge der Art *Mus musculus* sind, bei anderen Kleinnagerarten mit generell besserer Eignung zu Leishmania-wirten kommt sie nie vor.
2. Diese Art der Ausbreitung spart immer das Nächstliegende, nämlich das Hautorgan aus und sollte deshalb nicht als "Gene-

ralisation" sondern besser als Viszeralisation bezeichnet werden. Diffuse, sich flächenhaft über die Körperoberfläche ausbreitende Infektionen kommen nie vor.

3. Die viszerale Linie des Parasiten unterscheidet sich bei weiteren experimentellen wirtsgleichen oder wirtsverschiedenen Passagen auf Dauer nicht von dem ursprünglichen dermatotropen Ausgangsstamm. Es gelingt nicht einen Substamm mit stabiler topischer Spezifität für die inneren Organe abzuzweigen, wie sie für Angehörige des *L.donovani*-Komplexes typisch ist.

Immerhin kann die topische Präferenz von der Wirtsseite her temporär modifiziert oder außer Kraft gesetzt werden, ohne daß man dabei von einer Dauermodifikation oder gar Mutation der Organprädisposition sprechen könne. Die den Vorgang bestimmenden Bedingungen sind noch nicht bekannt, aber wohl mehr auf der Seite des Wirtes als auf der des Parasiten zu suchen.

Was die Möglichkeit einer gleichartigen Reinfektion nach einmal überstandener Hautleishmaniose beim Menschen anlangt, so sind die schon zu Beginn des Jahrhunderts bei Finger (1911) (15) zu findenden vorsichtigen Angaben auch heute noch gültig, allerdings auch besser durch Erfahrungen belegt und präzisiert worden: Einmaliges Überstehen der Erkrankung ergibt eine beschränkte relative Immunität. Kellina (1966) (26) reinfizierte artifiziell Menschen, die eine Hautleishmaniose in der Anamnese hatten, mit Kulturmateriel von *L.tropica*. Stämme mit geringer Virulenz wurden von solchen Personen abgewiesen. Es entwickelte sich in loco nur eine passagere Rötung, wie man sie auch mit abgetöteten Parasiten erhalten könnte. Hochvirulente Stämme durchbrechen die Abwehrschranke. Es entwickelt sich ein u.U. monatelang persistierendes Knötchen, das oberflächlich schuppt, aber auch ulzerieren kann und in dem Leishmanienvermehrung nachweisbar war. Preston & Dumonde (1976) (45) haben sich mit dieser Frage am Infektionsmodell der Labormaus beschäftigt. Je nach der applizierten Dosis von Kulturformen kann man schnell große oder langsam kleine Läsionen erzeugen. Es entwickelt sich in jedem Falle eine Immunantwort vom verzögerten Typ und zwar umso schneller, je höher die Infektions-

dosis war. Unabhängig von dieser entwickelte sich eine deutliche Immunität gegenüber einer Reinfektion, selbst mit hohen Dosen und schon bevor die erste Infektion vollständig abgeheilt ist. Es wird jedoch eingeschränkt, daß es bei sehr hohen Reinfektionsdosen doch erneut zu kleinen, schnell heilenden Läsionen kommen könne. Nach Handman et al (1979) (19) komme es bei resistenten Mäusestämmen zu absoluter Resistenz gegenüber Reinfektionen gleich welcher Stärke. Die Rolle einer etwa begleitenden Bakterienflora bei Reinfektionsläsionen ist allerdings nirgends diskutiert. In unseren Versuchen ergab sich unterschiedliches Verhalten von Mäusen gleicher genetischer Konstitution innerhalb einer mit gleicher Dosis infizierter und reinfizierter Gruppe. Dabei zeigte sich aber auch die Möglichkeit erfolgreicher Reinfektion mit erneuter Parasitenvermehrung in loco. Zur Stützung der Vorstellung, es bleibe generell nach einmal durchgemachter Hautleishmaniose eine lebenslange stabile Immunität gegenüber der Reinfektion zurück, lassen sich jedenfalls keine tierexperimentellen Belege finden.

Versucht man abschließend zu der bereits vom letzten Voruntersucher Packchanian (1979) (40) vorbehaltlos positiv beantworteten Frage auch in unserer Sicht Stellung zu beziehen, ob nämlich die haarlose Mäusezuchtform ein geeignetes Versuchstier für das Studium der experimentellen Hautleishmaniose sei, so scheint eine gewisse Zurückhaltung am Platze. Ihr einziger unbestreitbarer Vorteil besteht in den guten Beobachtungsmöglichkeiten. Schon der Eindruck, daß auf der nackten Mäusehaut etwas gleiches vor sich gehe, wie bei der natürlichen Infektion auf der Haut des Menschen, kann trügen. Die experimentelle Hautleishmaniose wird von Nacktmäusen ebenso gut oder schlecht unter Kontrolle gehalten, wie die felltragender Labormäuse. Von einer besonderen Empfänglichkeit der Tiere oder gar einer Unfähigkeit Abwehrmechanismen zu entwickeln, kann keine Rede sein. Ob die Parasitenzahl im Inokulum quantitativ exakt, oder wie in unseren Versuchen nur vergleichend semiquantitativ bemessen wird, ändert nichts an dem von allen Voruntersuchern konstatieren oft recht unterschiedlichen indivi-

duellen Verhalten der Experimentalwirte in der Gruppe. Für die in vivo Stammisolierung und Passagehaltung von *L.tropica* bietet die Nacktmaus gegenüber dem Goldhamster keine Vorteile.

D. Zusammenfassung

Die Prüfung verschiedener Körperstellen für das Angehen einer experimentellen Hautleishmaniose auf der haarlosen Maus erbrachte eine gleiche Eignung aller gewählten Inokulationsorte. Besonders geeignet ist jedoch die Schwanzwurzelgegend, da diese gut einsehbar und für das Tier gefahrlos ist. Während des Krankheitsverlaufs kommt es über Abszessbildungen zu kraterförmigen Ulzerationen, mitunter zu lymphogenen Satelliteneffloreszenzen, die in der Regel binn 10 Wochen abheilen. Der Leishmaniennachweis gelingt etwa vom Ende der 2. Woche an in den wulstigen Rändern des Ulkus. Die Umgebungstemperatur zeigt einen deutlichen Einfluß auf die Entwicklung der Hauterscheinungen. Während im warmen Milieu heftige Abszessentwicklung, ausgedehnte Exulzerationen und deren rasche Abheilung zu beobachten waren, zeigte sich unter kühlen Temperaturen die gesamte Pathogenese deutlich gebremst. Es ergaben sich Indizien dafür, daß das Wachstum der Leishmanien quantitativ an das gleichzeitige Gedeihen von Bakterien in den Läsionen gekoppelt ist und umgekehrt. Die typischen Ulzerationen ließen sich weder allein durch Bakterienreinkulturen noch mit Hilfe einfacher Hautsuspensionen von Nacktmäusen erzeugen. Diese Faktoren wirken als Adjuvans bei der Entwicklung der Orientbeule. Der Versuch tierexperimentell eine "sekundäre Hautleishmaniose" zu rekonstruieren mißlang. Gleichwohl konnte die Rückkehr i.p. verabreichter dermatotroper Leishmanien ins Hautorgan beobachtet werden. Unter den Ökotypen der Parasiten, die zu spontaner Viszeralisation in der Nacktm Maus führten, ließ sich kein Substamm mit stabilen viszerotropen Eigenschaften isolieren. Die Frage der Reinfektionsmöglichkeit nach einmal überstandener Hautleishmaniose fand auch in unseren Versuchen keine allgemeingültige Antwort. Der Vorteil der Nacktmaus für die experimentelle Hautleishmaniose liegt in den guten Beobachtungsmöglichkeiten, die sie bietet. Trotz kongenitaler Rudimentation der Thymusdrüse haarloser Labormäuse kann nicht davon die Rede sein, daß sie die Infektion schlechter unter Kontrolle zu halten vermögen als ihre felltragenden Artgenossen. Für eine in vivo Stammisolierung oder Passagehaltung von *L. tropica* bietet die Nacktmaus gegenüber dem Goldhamster keine Vorteile.

E. Literaturverzeichnis

1. Agaeva R.K., R.S.Dobrzhauskaya, S.M.Karimov&Z.P.Volokhovskaya:
The dynamics of immunopathological reactions in experimental
cutaneous leishmaniasis in the white mouse.
Med. Parasit. (Moskau) 46/1 73-78 (1977)
2. Behbehani K.:
Cutaneous leishmaniasis in mice. A model of non-healing disease.
Abstr.9 Internat. Congr. Trop. Med. Athen 1973, 2/136.
3. Beveridge E.&R.A. Neal:
Chemotherapy of cutaneous and visceral leishmaniasis in
laboratory animals.
Dermatol. Internat. 6, 163-167 (1967)
4. Bjorvatn B.&F.A. Neva:
A model in mice for experimental leishmaniasis with a West
African strain of *Leishmania tropica*.
Am. J. Trop. Med. Hyg. 28, 472-479 (1979)
5. Bryceson A.D.M.:
Mechanism of disease in leishmaniasis. In A.E.R. Taylor&R.
Muller
(Ed.): Pathogenic processes in parasitic infections.
Blackwell Sci. publ. Oxford 1975, 85-100
6. Bryceson A.D.M., R.S. Bray&D.C.Dumonde:
Experimental cutaneous leishmaniasis.4. Selective suppression
of cell-mediated immunity during the response of guinea-pigs
to infection with *Leishmania enrietti*.
Clin. exper. Immunol. 16, 189-202 (1974)
7. Bursuker J.&R. Goldman:
Quantitative and functional differences induced in bone-marrow
derived mononuclear phagocytes by inflammatory stimuli.
J. Reticuloendothel. Soc. 25 533-544 (1979)
8. Chang K.P.&J.W. Chiao:
Comparison of in vitro leishmanicidal activity in macrophages
mediated by lymphocytes from normal and nude mice.
Short.Comm.4.Internat.Congr.Parasitol. Warschau 1978, Sect.E,45.

9. Dobrzhauskaya R.S., V.G. Ladishkina & E.A. Permyakova:
The dynamics of antibody production in white mice with
experimental cutaneous leishmaniasis.
Med Parasit. (Moskau) 45, 415-422 (1976).
10. Dobrzhauskaya R.S.:
Bacterial flora accompanying experimental skin leishmaniasis
in mice.
Med. Parazit. (Moskau) 46, 363-366 (1977)
11. Dubovsky yu.A.: Ecological causes of predominance of some
mammals as reservoirs of *Leishmania tropica* major in Turanian
deserts.
Folia Parasit. 22, 193-196 (1975)
12. Eliseev L. & Strelkova M.V.:
The effect of environmental temperature upon the temperature
of the skin and course of cutaneous leishmaniasis in *Rhombomys*
opimus Licht. and *Meriones libicus* Licht.
Med Parazit. (Moskau) 35, 696-705 (1966).
13. Ercoli N.:
Studies on the therapeutic resistance of cutaneous leishmania
infections.
Chemotherapia 8, 3-20 (1964)
14. Eshleman R.W. & W.M. Botkin:
Cutaneous leishmaniasis.
J. Kansas Med. Soc. 77, 22 (1976)
15. Finger E.:
Orientbeule.
In Real-Encyclopädie d. ges. Heilk. 4. Aufl. Bd. 11. 197-202,
Urban & Schwarzenberg Berlin u. Wien 1911.
16. Fogh J. & B. Giovanella:
The nude mouse in experimental and clinical research.
Acad. Press New York ect. 1979
17. Gonder R.
Experimentelle Übertragung der Orientbeule auf Mäuse.
Arch. Schiffs- u. Tropenhyg. 17, 397-403 (1913)
18. Groscurth P., M. Müntener & G. Tönduri:
Histogenese des Immunsystems der "nude" Maus. 2. Postnatale

- Entwicklung des Thymus: eine lichtmikroskopische Studie.
Beitr. Path. 154, 125-139 (1975)
19. Handman E., R. Ceredig & G.F. Mitchell:
Murine cutaneous leishmaniasis: Disease patterns in intact and nude mice of various genotypes and examination of some differences between normal and infected macrophages.
Austral. J. exper. Biol. a. Med. Sci. 57, 9-29 (1979)
20. Hayate Z.G.:
Effect of environmental temperature on cutaneous leishmaniasis diffusa in mice.
Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 64, 17 (1970)
21. Holup M., P. Rossmann, H. Tlaskalová & H. Vidmarova:
Thymus rudiment of the athymic nude mouse.
Nature (Lond.) 256, 491-493, (1975)
22. Holup H., P. Rossmann & B. Mandl:
Dysgenic thymus complex in the nude mouse.
Folia Biol. 24, 416-418 (1978).
23. Jadin J., D. Le Ray:
Les milieux de culture des leishmanies.
Coll. Internat. C.N.R.S. Paris Nr. 239 (1974), 21-29 (1977)
24. Karimov Sh.M., R.S. Dobrzhauskaya & R.K. Agaeva:
Factors leading to the death of mice infected with cultures of *Leishmania tropica* major.
Med. Parasit. (Moskau) 46, 366-369 (1977)
25. Kellina O.J.:
Lokal processes occurring in the skin of mice following inoculation of virulent and non virulent strains of *Leishmania tropica*.
Med. Parazit. (Moskau) 31, 327-330 (1962)
26. Kellina O.J.:
Studies on immunity in cutaneous leishmaniasis. 2. Lokal allergic reactions and survival of *Leishmania* in the skin after inoculation of *Leishmania tropica* major culture to immune persons.
Med. Parazit. (Moskau) 35, 679-686 (1966)
27. Kochs A. & E. Kochs:
Hautleishmaniose als Sekundärinfektion.

- Dermat. Wschr. 130, 903-910 (1954)
- 28.Kojevnikov V.:
Cutaneous leishmaniasis connected with trauma.
Med. Parazit. (Moskau) 13, 57-59 (1944).
- 29.Krampitz H.E.:
Neuere Erkenntnisse über die geographische Verbreitung
der Leishmaniasen in der alten Welt.
Geogr.Z. Beih. 51, 42-58 (1979a)
- 30.Krampitz H.E.:
Offene Probleme der Leishmania- und Leishmaniaseforschung.
Tropenmed. Parasitol. 30, 145-146 (1979b)
- 31.Krampitz H.E.:
Acht Jahrzehnte Leishmaniaforschung - offene Fragen im
Blickpunkt der öffentlichen Gesundheitspflege.
Bundesgesundheitsblatt /1979c (im Druck).
- 32.Krampitz H.E., B.Weber & K.Scheffer:
Zum Verhalten von Leishmanien aus Hautulzera des Menschen in
kleinen Labortieren.
Acta Trop. 34, 293-311 (1977).
- 33.Laveran A.:
Infections experimentales de souris d'un meriones d'un rat et
d'un macaque par la leishmania tropica.
Bull. Soc. Path. exot. 7, 663-670. (1914)
- 34.Mayer M., E.Laas & C.Sonnenschein:
Übergeneralisierte Infektionen mit Leishmania tropica (Orient-
beule) bei weißen Mäusen.
Arch Schiffs- und Tropenhyg. 38, 16-28 (1934)
- 35.Morsy T.A.:
Cutaneous leishmaniasis in Saudi Arabia.
Summ. 1. Mediterr. Conf. Parasitol. Izmir 1977, 8.
- 36.Neal R.A.:
Chemotherapie of cutaneous leishmaniasis: Leishmania tropica
infektions in mice.
Ann. Trop. Med. Parasitol. 58, 399-410 (1964)
- 37.Neva F.A., D.Wyler & Th.Nash:
Cutaneous leishmaniasis - a case with persistent organisms
after treatment in presence of normal immun response.

Am. Trop.Med. Hyg. 28, 467-471 (1979)

38.Nicolle Ch.:

Culture du parasite du bouton d'orient.

C.R.Soc.Biol. (Paris) 146, 442-443 (1908)

39.Nicolle Ch. & A.Sicre:

Recherches sur le bouton d'orient.

Arch. Inst. Past. Tunis 3, 117-125 (1908)

40.Packchanian A.:

Experimental cutaneous leishmaniasis with *Leishmania tropica* in albino hairless mice, *Mus musculus*.

Trans R. Soc. Trop. Med.Hyg. 73, 31-36 (1979)

41.Pérez H., f.Labrador & J.W. Torre Alba:

Variations in the response of five strains of mice to *Leishmania mexicana*.

Internat. J. Parasitol. 9, 27-32 (1979)

42.Pershin G. & N.Y.Moskalenko:

Studies on experimental cutaneous leishmaniasis of albino mice as a chemotherapeutic model.

Med. Parazit. (Moskau) 31, 727-733 (1962)

43.Piekarski G. & Ch.Meske:

Experimentelle Infektionen mit pathogenen Protozoen.

In A.Heffler & Heubner, Handb. exper. Pharmakol. 16, Teil 9

Abs. C: *Leishmania donovani* Laveran & Mesnil 1903, *L. tropica* Wright 1903 und *L.brasiliensis* Vianna 1911, p. 191-206.

Springer Verlag 1964.

44.Preston P. & D.C.Dumonde:

Enhanced susceptibility of thymektomized mice to infection with *Leishmania tropica*.

C.R.1. Multicoll.Europ. Parasitol. Rennes 1971, 190.

45.Preston P.M. & D.C.Dumonde:

Experimental cutaneous leishmaniasis. 5. Protective immunity in subclinical and self-healing infections in the mouse.

Clin. Exper. Immunol. 23, 126-138 (1976)

46.Preston P.M., K.Behbehani & C.D.Dumonde:

Experimental cutaneous leishmaniasis.6.Anergy and allergy in the cellular immune response during non-healing infection in different strains of mice.

J.Clin. a. lab. Immunol. 1, 207-214 (1978)

47. Rygaard J.:
The mouse mutant nude.
Par. 2 of Thymus and self. Wiley Intersci. Publ. Copenhagen
1973, 45-193.
48. Rygaard J. & C.D. Povlsen:
Bibliographie of the nude mouse 1966-1976.
Fischer Verlag Stuttgart, New York 1977.
49. Schüle D., G. Lüders & J. Brown:
Gentamycin in der Therapie der cutanen Leishmaniose.
Z. Hautkrht. 49, 951-961 (1974)
50. Siegenthaler R.:
Cutane Leishmaniose in der Schweiz.
Schweiz. Med. Wschr. 95, 296-299 (1965)
51. Stauber L.A.:
Leishmaniasis: The progress in the infection of experimental
animals.
Abstr. 9 Internat. Congr. Trop. Med. Athen 1973, 1/138.
52. Steck E.A.:
The Leishmaniases.
In E. Jucker (Ed.): Progress in drug research. Birkhäuser Verl.
Basel 1974, 289-351.
53. Trotter E.R., W. Peters & B.L. Robinson:
The experimental chemotherapy of leishmaniasis. 6. Development
of rodent models for cutaneous infections with *L. tropica* major
and *L. mexicana amazonensis*.
Ann. Trop. Med. Parasit. 1979 (im Druck).
54. Weber B.:
Das Verhalten von Leishmanien aus Hautulzera des Menschen im
Tierversuch.
Vet. Med. Diss. München 1977.
55. Weintraub J., F.J. Weinbaum, B. Bjorvatn & F.A. Neva:
A model of experimental cutaneous leishmaniasis in BALB/c mice.
Resum. Trabaj. libres 4. Congr. Latinoamer. Parasitol. San José,
Costa Rica 1976, 10.
56. Wright J.H.:
Protozoa in a case of tropical ulcer (Delhi sore)
J. Med. Res. 10, 442, 482 (1903)

57. Zéledon R., E. Blanco & E. de Monge:

Comparative experimental infections with Costa Rican strains of *Leishmania braziliensis* Vianna 1911.

Acta Trop. 26, 136-155 (1969).

Lebenslauf

17.5.1949 geboren als Tochter von Karl Vogl und seiner Gemahling Johanna Vogl geb.Leschmann in Nürnberg

1955 - 1957 Besuch der Volksschule in Ansbach

1957 - 1959 Besuch der Schwanthaler-Volksschule in München

1959 - 1968 Besuch des städt.Luisengymnasiums in München

7.1968 Reifeprüfung

1968 - 1969 Krankenpflegepraktikum im städt.Krankenhaus Bad Tölz und im Krankenhaus der Barmherzigen Brüder in München

1969 - 1972 Besuch der Höheren Fachschule für Beschäftigungs- und Arbeitstherapie in München

8.1972 Staatliche Prüfung

11.1972 - 1.1973 Tätigkeit als Beschäftigungstherapeutin im Spastikerzentrum in München

1973 - 1979 Studium der Human-Medizin an der Ludwig-Maximilian-Universität in München

17.8.1973 Eheschließung mit dem Kaufmann Norbert Scheffer

21.3.1975 Ärztliche Vorprüfung

30.3.1976 1.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

18.5.1977 Ehescheidung

6.2.1978 Geburt einer Tochter, Vivian Scheffer

31.8.1978 2.Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

10.1978 - 9.1979 Praktisches Jahr

16.10.78 - 4.2.79 1.Chirurgische Abteilung des städt.Krankenhauses München-Schwabing

5.2. - 27.5.1979 Psychiatrische Klinik der Universität München

4.6. - 23.9.1979 Klinikum Großhadern, Medizinische Klinik 1

15.10. u.23.11.79 schriftlicher und mündlicher Teil des 3.Abschnitts der Ärztlichen Prüfung

